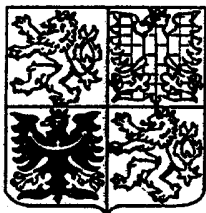


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA
VYNÁLEZU

(12)

(21) 1836-93

(13) A3

5(51)

A 61 K 31/505

A 61 K 31/70

(22) 05.03.92

(32) 05.03.92, 06.03.91

(31) 92GB/9200389, 91/4740

(33) WO, GB

(40) 15.06.94

(71) THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, London,
GB;

(72) Painter George Robert III, Chapel Hill, N. Carolina, US;
Furman Allen Phillip, Durham, N. Carolina, US;

(54) Protivirově účinná kombinace nukleosidů

(57) Jsou popsány synergické kombinace nukleosidových derivátů, sestávající z a) 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5- -fluorecytosinz nebo jeho fyziologicky funkčního derivátu a b) 3'-azido-3'-deoxythymidinu nebo jeho fyziologicky funkčního derivátu, a farmaceutické prostředky, které obsahují tyto kombinace. Synergické kombinace, zejména obsažené ve farmaceutických prostředcích, jsou vhodné pro ošetřování infekcí způsobených retroviry.

Protivirově účinná kombinace nukleosidů

Oblast techniky

Tento vynález se týká synergických protivirově účinných kombinací nukleosidových derivátů, farmaceutických prostředků obsahujících tyto kombinace a jejich použití v léčebné terapii, zvláště při ošetřování virových infekcí a především infekcí způsobených retroviry.

Dosavadní stav techniky

Syndrom získané imunitní nedostatečnosti (AIDS) je imunosupresivní neboli imunodestruktivní choroba, která způsobuje, že pacienti jsou náchylní k fatálním příležitostným infekcím. Příznačně je AIDS spojena a progresivním vyčerpáním T buněk, zvláště ze skupiny indukující pomoc, která nese povrchový znak OKT⁴.

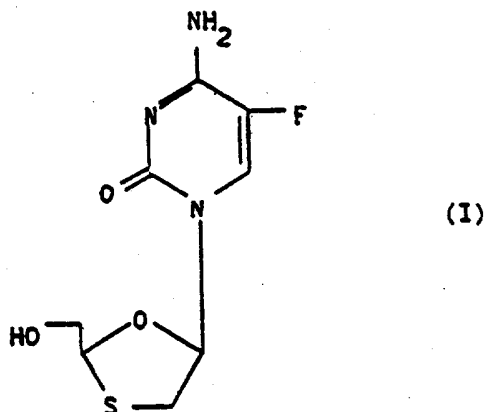
Virus lidské imunitní nedostatečnosti (HIV) se reprodukovatelně izoluje od pacientů, kteří trpí AIDS nebo příznaky, které často předcházejí AIDS. HIV je cytopatický a zdá se, že přednostně infikuje a ničení T buňky obsahující znak OKT⁴. Nyná bylo obecně zjištěno, že HIV je etiologickým prostředkem AIDS.

Od zjištění, že HIV je etiologickým prostředkem AIDS, byla navržena řada chemoterapeutických prostředků působících proti HIV, které mohou být účinné při ošetřování pacientů trpících AIDS. Tak například evropský patentový spis č. 0 382 526 uvádí substituované 1,3-oxathiolany, které jsou účinné proti HIV. US patentový spis č. 4 724 232 a evropský patentový spis č. 0 196 185 popisují 3'-azido-3'-deoxythymidin (který má schválené označení zidovudin) a jeho použití při ošetřování AIDS.

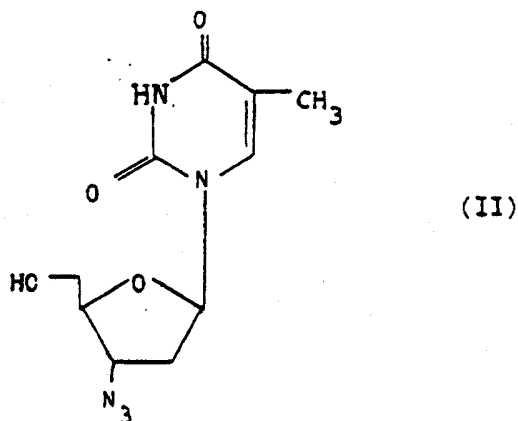
Podstata vynálezu

Původci tohoto vynálezu nyní zjistili, že 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosin v kombinaci s 3'-azido-3'-deoxythymidinem (zidovudinem) má za výsledek překvapivě veliké zvýšení účinku sloučenin proti HIV. Použití 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosinu v kombinaci se zidovudinem způsobuje synergické zvýšení účinku proti HIV, v porovnání s účinky proti HIV u jednotlivých sloučenin.

Proto první znak tohoto vynálezu se týká kombinace a) 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosinu vzorce I



nebo jeho fyziologicky funkčního derivátu a b) 3'-azido-3'-deoxythymidinu (zidovudin) vzorce II



nebo jeho fyziologicky funkčního derivátu, přičemž složky a) a b) kombinace se používají dohromady tak, že se dosáhne synergického protivirového účinku. Výraz "synergický protivirový účinek" se zde používá k označení protivirového účinku, který je větší, než jsou předpokládané čistě aditivní účinky jednotlivých složek a) a b) kompozice.

Je vhodné poznamenat, že sloučenina vzorce I obsahuje dva chirální středy, a proto může být ve formě dvou párů optických isomerů (to znamená enantiomerů) nebo jejich směsí, včetně racemické směsi. Tak sloučenina vzorce I může být buď cis-isomer nebo trans-isomer nebo může tvořit jejich směsí. Každý cis- nebo trans-isomer se může vyskytovat jako jeden ze dvou enantiomerů nebo jako jejich směsí, včetně směsi racemické.

Všechny takové isomery nebo jejich směsí, zahrnující též racemické směsí, spadají do rozsahu vynálezu, který také zahrnuje tautomerní formy sloučenin vzorce I a II. cis-Isomery sloučeniny vzorce I jsou výhodné.

Výrazem "fyziologicky funkční derivát" se rozumí farmaceuticky přijatelná sůl, ester nebo sůl esteru základní sloučeniny vzorce I nebo II, farmaceuticky přijatelný amid sloučeniny vzorce I nebo jakákoli jiná sloučenina, která po podání příjemci (pacientovi) je schopna poskytnout (přimo

nebo nepřímo) základní sloučeninu nebo její aktivní metabolit nebo zbytek odvozený od základní sloučeniny.

Mezi výhodné estery podle tohoto vynálezu se zahrnují estery karboxylových kyselin, ve kterých nekarbonylová část esterového seskupení je zvolena z přímých nebo rozvětvených alkylových řetězců, například n-propylu, terc.-butylu nebo n-butylu, alkoxyalkylové skupiny (například methoxymethylu), aralkylové skupiny (například benzylu), aryloxyalkylové skupiny (například fenoxymethylu) a arylové skupiny (například fenylu), sulfonátových esterů, jako alkylsulfonylu nebo aralkylsulfonylu (například methansulfonylu), esterů aminokyselin (například L-valylu nebo L-isoleucylu), esterů dikarboxylových kyselin (například hemisukcinátu) a mono-, di- nebo trifosfátových esterů. Fosfátové estery mohou být dále esterifikovány, například alkoholem s 1 až 20 atomy uhlíku nebo jeho reaktivní derivátem, nebo 2,3-diacylglycerolem s 6 až 24 atomy uhlíku v acylové části.

Libovolná alkylová část přítomna v takových esterech výhodně obsahuje 1 až 18 atomů uhlíku, zvláště 1 až 4 atomy uhlíku. Jakákoli arylová část přítomna v takových esterech výhodně obsahuje fenylovou skupinu, která je popřípadě substituována, například atomem halogenu, alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxykupinou s 1 až 4 atomy uhlíku nebo nitroskupinou.

Svrchu uvedené farmaceuticky přijatelné amidy sloučeniny vzorce I zahrnují deriváty, ve kterých aminoskupina na cytosinu je přítomna ve formě amidu, například jako skupina vzorce NHCOR, kde R představuje alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo arylovou skupinu (například fenylovou skupinu, která je popřípadě substituována atomem halogenu, alkylovou skupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, alkoxykupinou s 1 až 4 atomy uhlíku, nitroskupinou nebo

hydroxyskupinou).

Příklady farmaceuticky přijatelných solí zahrnují báze solí, například odvozené od příslušné báze, jako soli alkalických kovů (například sodné), kovů alkalických zemin (například hořečnaté), soli amonné nebo obsahující NX_4^+ (kde X znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku). Farmaceuticky přijatelné adiční soli s kyselinami zahrnují soli organických karboxylových kyselin, jako je kyselina octová, kyselina mléčná, kyselina vinná, kyselina jablečná, kyselina isethionová, kyselina laktobionová a kyselina jantarová, organických sulfonových kyselin, jako je kyselina methansulfonová, kyselina ethansulfonová, kyselina benzensulfonová a kyselina p-toluensulfonová a anorganických kyselin, jako je kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná a kyselina sulfamová.

Příklady virových infekcí a souvisejících klinických stavů, které se mohou ošetřovat nebo kterým se dá zabránit podle tohoto vynálezu, zahrnují infekce člověka způsobené retroviry, jako virem lidské imunitní nedostatečnosti (HIV), například HIV-1 nebo HIV-2 a lymfotropním virem T-buněk člověka (HTLV), například infekcí způsobených HTLV-I nebo HTLV-II. Kombinace podle tohoto vynálezu jsou zvláště vhodné pro ošetřování AIDS a příbuzných klinických stavů, jako je komplex související s AIDS (ARC), progresivně generalizovaná lymfadenopatie (PGL), neurologické stavy příbuzné AIDS, jako je roztroušená skleróza nebo lokální paraparesa, anti-HIV stavy pozitivní na protilátku a stavy pozitivní na HIV, jako je trombocytopenická purpura. Kombinace podle tohoto vynálezu se mohou také používat pro ošetřování lupénky. Bylo zjištěno, že kombinace podle tohoto vynálezu jsou zvláště použitelné pro ošetřování asymptomatických infekcí nebo chorob, jejichž příčinou jsou retroviry člověka nebo s těmito retroviry souvisejí.

Proto druhý znak tohoto vynálezu se týká zde popsaných kombinací pro použití v lékařské terapii, zvláště pro ošetřování nebo profylaxi některé ze svrchu zmíněných virových infekcí, zejména infekcí vyvolaných HIV včetně AIDS.

Tento vynález se dále týká způsobu výroby zde popsaných kombinací, který zahrnuje uvedení složek a) a b) kombinace do styku v léčivu, k dosažení synergického protivirového účinku.

Další znak tohoto vynálezu se týká použití kombinace podle tohoto vynálezu k výrobě léčiva pro ošetřování některé z výše uvedených virových infekcí nebo stavů.

Tento vynález se dále týká způsobu ošetřování nebo profylaxe virových infekcí (zvláště infekcí způsobených HIV) u savců (včetně člověka), který zahrnuje podávání účinného množství výše popsané kombinace savci. Vysoce se hodnotí, že se podle tohoto vynálezu složky a) a b) kombinace mohou podávat současně nebo postupně. V případě postupného podávání se však sloučeniny podávají v dostatečně krátkém intervalu, aby se zajistilo, že se dosáhne synergického protivirového účinku.

Tento vynález se rovněž týká způsobu zesílení protivirového účinku složek a) a b) kombinace na savce (včetně člověka) trpícího virovou infekcí, který spočívá v tom, že se savci podává synergicky účinné množství složky a) současně s podáním složky b) nebo před podáním této druhé složky nebo po jejím podání.

Výhoda kombinace podle tohoto vynálezu spočívá v tom, že umožňuje dosáhnout zlepšené protivirové účinnosti při zvláštní dávce jedné z protivirově účinných složek.

(v porovnání s použitím samotné složky), přičemž se zlepšuje terapeutický index složky. Tak například se kombinace může používat pro ošetřování stavů, které by jinak vyžadovaly relativně velké dávky protivirově účinné složky a které by mohly způsobit problémy s toxicitou. Menší dávky kombinace mohou vést ke zvýšené výhodnosti u pacienta a zvýšenému harmonickému doplnění.

Využitelnost

Kombinace podle tohoto vynálezu se mohou podávat savci obvyklým způsobem. Jak je uvedeno výše, složky a) a b) se mohou podávat současně (například v jednotkovém farmaceutickém prostředku) nebo odděleně (například v oddělených farmaceutických prostředcích). Obecně se kombinace mohou podávat lokální, orální, rektální nebo parenterální (například intravenózní, subkutánní nebo intramuskulární) cestou. Je zřejmé, že cesta podání se může měnit, například podle vážnosti stavu a identity příjemce.

Je třeba vzít v úvahu, že i když se obvykle použije optimálního poměru složek k dosažení maximálně zvýšeného účinku, rovněž malé změny jedné složky budou dostačovat k zvýšení účinku druhé složky do stejného stupně a tak jakýkoli poměr obou složek způsobujících zesílení účinku bude stále projevovat požadovaný synergický účinek. Avšak největší synergie se obvykle pozoruje, pokud jsou obě složky přítomny ve zvláštních poměrech.

Optimální molární poměry zidovudinu k 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosinu nebo jejich příslušných fyziologicky funkčních derivátů, pro použití podle tohoto vynálezu, jsou od 1:1 do 1:600, výhodně od 1:10 do 1:250 a obzvláště výhodně 1:25.

Dále zde složky kombinace mohou být též označovány výrazem "účinné složky".

Dávka kombinace bude záviset na stavu určeném k ošetřování a na jiných klinických okolnostech, jako je hmotnost a stav pacienta a cesta podání složek kombinace. Příklady rozmezí dávek a poměrů složek jsou tyto:

Obecná vhodná dávka kombinace podle tohoto vynálezu, vztažená na celkovou hmotnost složek a) a b), bude v rozmezí od 3 do 120 mg na kilogram tělesné hmotnosti příjemce za den, výhodně v rozmezí od 6 do 90 mg na kilogram tělesné hmotnosti příjemce za den, zvláště výhodně v rozmezí od 15 do 60 mg na kilogram tělesné hmotnosti příjemce za den. Požadovaná dávka se výhodně předkládá jako dvě, tři, čtyři, pět nebo šest dílčích dávek podávaných ve vhodných intervalech během dne. Tyto dílčí dávky se mohou podávat ve formě dávkové jednotky, například obsahující od 10 do 1500 mg, výhodně od 20 do 1000 mg a nejvýhodněji od 50 do 700 mg účinných složek na formu dávkové jednotky.

I když je možné účinné složky podávat samotné, je výhodné předkládat je ve formě farmaceutických prostředků. Farmaceutické prostředky podle tohoto vynálezu obsahují kombinaci podle vynálezu dohromady s jednou nebo větším počtem farmaceuticky přijatelných nosných látek nebo pomocných látek a popřípadě jiných terapeuticky účinných prostředků. Pokud se jednotlivé složky kombinace podávají odděleně, každá z nich je obvykle přítomna jako farmaceutický prostředek. V souvislosti se zde dále uvedenými údaji se prostředky vztahují, pokud není uvedeno jinak, k prostředkům obsahujícím buď kombinaci nebo její složky. Prostředky zahrnují takové prostředky, které jsou vhodné pro perorální, rektální, nosální, lokální (včetně transdermálního, bukalního a sublinguálního), vaginální nebo parenterální (včetně

subkutánního, intramuskulárního, intravenózního a intradermálního) podání. Prostředky mohou být obvykle přítomny ve formě jednotkové dávky a mohou se vyrábět libovolnými způsoby, které jsou dobře známé v oboru farmacie. Takové způsoby zahrnují stupeň uvedení do styku účinných látek s nosnými látkami, které sestávají z jednoho nebo většího počtu vedlejších složek.

Z obecného hlediska se prostředky mohou vyrábět rovnoměrným a důkladným uvedením do styku účinných látek s kapalnými nosnými látkami nebo jemně rozmělněnými pevnými nosnými látkami, případně s oběma těmito typy nosných látek a potom, jestliže je zapotřebí, tvarováním produktu.

Prostředky podle tohoto vynálezu, vhodné pro perorální podání, mohou být přítomny jako oddělené jednotky, jako například kapsle, kašety nebo tablety, z nichž každá obsahuje předem stanovené množství účinných látek, jako prášky nebo granule, jako roztoky nebo suspenze ve vodné nebo nevodné kapalině nebo jako kapalné emulze typu olej ve vodě nebo voda v oleji. Účinná složka může také být přítomna ve formě sousta, lektvaru nebo pasty.

Tablety se mohou zhotovovat lisováním nebo odléváním, popřípadě s jednou nebo větším počtem vedlejších složek. Lisované tablety se mohou vyrábět ve vhodném přístroji lisováním účinných látek ve volně tekoucí formě, jako prášku nebo granulí, které jsou popřípadě smíchány s pojivem (například povidonem, želatinou, hydroxypropylmethylcelulózou), kluznou látkou, inertním ředidlem, konzervační látkou, látkou napomáhající rozpadu (například natriumglykolátem škrobu, zesítěným povidonem nebo zesítěnou natriumkarboxymethylcelulózou), povrchově aktivní látkou nebo činidlem napomáhajícím dispergování. Odlévané tablety se mohou vyrábět na vhodném stroji ze směsi práškových účinných látek zvlhče-

ných inertním kapalným ředidlem. Tablety se mohou popřípadě povlékat nebo opatřit zářezem a mohou se připravovat tak, aby se dosáhlo pomalého nebo řízeného uvolňování účinných látek při jejich použití, například zavedením hydroxypropylmethylcelulózy v měnicích se poměrech k získání požadovaného profilu uvolňování. Tablety se mohou popřípadě opatřit enterickým povlakem, aby se dosáhlo uvolňování v části vnitřnosti, která je jiná než žaludek.

Prostředky vhodné k lokálnímu podání do úst zahrnují pokroutky, obsahující účinné složky ve vhodné bázi, obvykle v sacharóze a akacii nebo tragantu, pastylky, které obsahují účinnou látku a inertní bázi, jako je želatina nebo glycerin, nebo sacharóza a akacie, a ústní vody, které obsahují účinnou látku ve vhodné kapalně nosné látce. Prostředky k rektálnímu podávání mohou být přítomny jako čípky, které například obsahují kakaové máslo nebo salicylát.

Lokální podávání může také být prováděno pomocí transdermálního iontoforézního zařízení.

Prostředky vhodné k vaginálnímu podání mohou být přítomny jako pesary, tampony, krémy, želé, pasty, pěny nebo sprejové formulace, které obsahují kromě účinných látek látky nosné, o kterých je v oboru známo, že jsou vhodné k tomuto účelu.

Prostředky vhodné k parenterálnímu podávání zahrnují vodné a nevodné isotonické sterilní injekční roztoky, které mohou například obsahovat antioxidantní činidla, pufry, bakteriostatické přípravky a rozpuštěné látky, pomocí kterých se dosahuje isotonického stavu s krví zamýšleného příjemce, a vodné a nevodné sterilní suspenze, které mohou obsahovat například suspenzační činidla a zahušťovadla, a liposomy nebo jiné makroparticulární systémy, které jsou navrženy

k dosažení toho, že se sloučenina stane složkou krve nebo se dostane k jednomu nebo většímu počtu orgánů. Prostředky mohou být přítomny v zásobnicích pro jedinou dávku nebo pro větší počet dávek, například v uzavřených ampulích nebo lahvičkách, a mohou se skladovat za lyofilních podmínek (dosažených vymrazováním), vyžadujících toliko přísad sterilní kapalné nosné látky, například vody pro injekce, bezprostředně před použitím. Extemporální injekční roztoky a suspenze se mohou vyrábět ze sterilních prášků, granulí a tablet druhů, které jsou popsány výše.

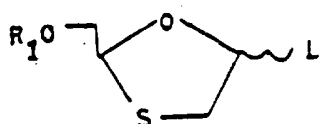
Výhodné prostředky tvořené dávkovou jednotkou jsou prostředky, které obsahují denní dávku nebo denní dílčí dávku účinných složek, jak je popsána výše, nebo její příslušný díl.

Je třeba rozumět, že kromě složek zvláště uvedených výše, prostředky podle tohoto vynálezu mohou zahrnovat také jiné látky obvyklé v oboru s ohledem na typ příslušného prostředku, například prostředky vhodné k perorálnímu podání mohou zahrnovat další látky, jako jsou sladidla, zahušťovadla a příchuti.

Sloučeniny z kombinace podle tohoto vynálezu se mohou vyrábět obvyklým způsobem. Zidovudin se může vyrábět například jak je popsáno v US patentu č. 4 724 232, který se uvádí jako součást známého stavu techniky. Zidovudin se může také získat od firmy Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin 53233, USA.

1-/2-(Hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosin se může vyrobit například tím, že

- a) popřípadě chráněný 5-fluorcytosin se nechá reagovat s 1,3-oxathiolanem obecného vzorce IIIA



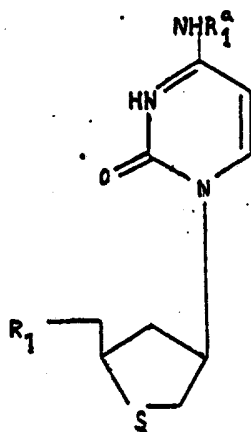
(IIIA)

ve kterém

R_1 znamená atom vodíku nebo skupinu chránící hydroxy-
skupinu a

L představuje odštěpitelnou skupinu, nebo

b) sloučenina obecného vzorce IIIB



(IIIB)

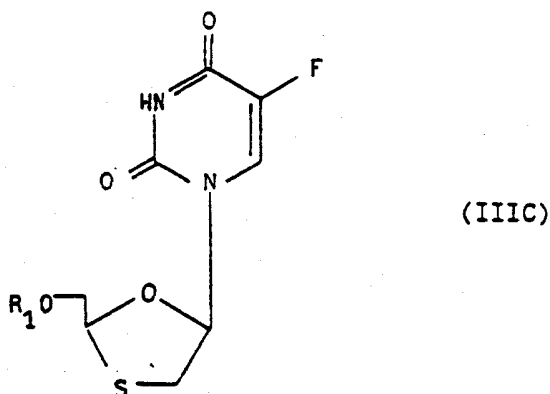
ve kterém

R_1 má význam uvedený výše a

R_1^a představuje skupinu chránící aminoskupinu,

se nechá reagovat s fluoračním činidlem sloužícím
k zavedení atomu fluoru do polohy 5 cytosinového
kruhu, nebo

c) sloučenina obecného vzorce IIIC



ve kterém

R_1 má význam uvedený výše,

se nechá reagovat s činidlem sloužícím k převedení oxoskupiny v poloze 4 uracilového kruhu na aminoskupinu a

libovolné chránící skupiny se odstraní za vzniku požadované sloučeniny.

S ohledem na způsob a), skupina chránící hydroxyskupinu zahrnuje chránící skupiny, jako je acyl (například acetyl), arylacyl (například benzoyl nebo substituovaný benzoyl), trityl nebo monomethoxytrityl, benzyl nebo substituovaný benzyl, trialkylsilyl (například dimethyl-terc.-butylsilyl) nebo difenylmethylsilyl. 5-Fluorcytosinová sloučenina může být popřípadě chráněna silylem, například trimethylsilylovými skupinami. Takové skupiny se mohou odstranit obvyklým způsobem. Odštěpitelná skupina L je odštěpující se skupina typu známého v oboru chemie nukleosidů, například halogen, jako atom chloru nebo atom fluoru, alkoxykupina, jako methoxykupina nebo ethoxykupina, nebo acyl, jako je acetyl nebo benzoyl.

Reakce při způsobu a) se může provádět v organickém

rozpouštědla (například 1,2-dichlorethanu nebo acetonitrilu) v přítomnosti Lewisovy kyseliny, jako je chlorid ciničitý nebo trimethylsilyltriflát.

Sloučeniny obecného vzorce IIIA se mohou získat z vhodně chráněného 2-hydroxyacetaldehydu obecného vzorce IV



ve kterém

R_1 má význam uvedený výše,

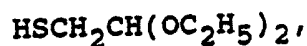
jak je popsáno v Can. J. Research, 8, 129 /1933/ a evropském patentovém spise č. 0 382 526. Reakce sloučenin obecného vzorce IV s merkptoacetalem obecného vzorce



ve kterém

R znamená alkoxykupinu s 1 až 4 atomy uhlíku,

jako se sloučeninou vzorce



známá v oboru (Chem. Ber. 85, 924-932 /1952/), poskytne sloučeniny obecného vzorce IIIA, ve kterém L představuje skupinu vzorce OR (alkoxykupinu), například methoxykupinu nebo ethoxykupinu. Podle jiného provedení se sloučeniny obecného vzorce IIIA, ve kterém L znamená alkoxykupinu, mohou převést na sloučeniny obecného vzorce IIIA, ve kterém L znamená atom halogenu nebo acylovou skupinu, způsoby známými v oboru chemie cukrů.

Sloučeniny obecného vzorce IV se mohou vyrobit z 1,2-O-isopropylidenglycerolu zavedením substituentu R_1 (například trisubstituovaného silylu, benzylu nebo tritylu) a odstraněním isopropylidenové skupiny působením mírné kyseliny (například vodné kyseliny mravenčí nebo kyseliny octové) nebo bromidu zinečnaného v acetonitrilu a poté oxidací alkoholového zbytku vodným roztokem jodistanu.

Podle způsobu b) se fluor jako substituent polohy 5 může zavést způsoby známými v oboru (M. J. Robin a kol. v Nucleic Acid Chemistry, část 2, L. B. Townsend a R. S. Tipson, vyd. J. Wiley and Sons, New York, str. 895 až 900 /1978/ a odkazy tam uvedené, R. Duschinsky v Nucleic Acid Chemistry, část 1, L. B. Townsend a R. S. Tipson, vyd. J. Wiley and Sons, New York, str. 43 až 46 /1978/ a odkazy tam uvedené). Fluoračním činidlem může být například trimethylhy-pofluorit ve fluortrichlormethanu.

S ohledem na způsob c) se uvádí, že se sloučenina obecného vzorce IIIC výhodně zpracuje s 1,2,4-triazolem, účelně dohromady s 4-chlorfenyldichlorfosfátem, za vzniku odpovídající 4-(1,2,4-triazolylové) sloučeniny, která se potom převede na požadovanou 4-amino(cytidinovou) sloučeninu reakcí například s methanolem.

Výchozí sloučeniny obecného vzorce IIIB a IIIC se mohou vyrobit například reakcí vhodné (popřípadě chráněné) báze se sloučeninou obecného vzorce IIIA analogickým způsobem, jako je popsán pod způsobem a). 5-Fluoruracil a 5-fluorcytosin jsou obchodně dostupné sloučeniny od firmy Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin 53233, USA.

Oddělení (\pm)-cis-isomeru a (\pm)-trans-isomeru sloučeniny vzorce I, například v chráněné formě, se může

provádět chromatograficky na silikagelu za použití směsi organických rozpouštědel, jako směsi ethylacetátu a methanolu, ethylacetátu a hexanu nebo dichlormethanu a methanolu. Jakákoli chránicí skupina se může potom odstranit za použití příslušného reakčního činidla pro každou skupinu.

Estery sloučenin vzorce I a II, které tvoří složku, se mohou vyrobit obvyklým způsobem, reakcí s příslušným esterifikačním činidlem, jako je halogenid nebo anhydrid kyseliny. Sloučeniny vzorce I nebo II nebo jejich estery se mohou převést na své farmaceuticky přijatelné soli zpracováním s vhodnou bází. Ester nebo sůl sloučeniny, tvořící složku, se může převést na základní sloučeninu hydrolyzou.

Farmaceuticky přijatelné amidy sloučenin vzorce I se mohou vyrobit například reakcí s příslušným acylačním činidlem, například halogenidem nebo anhydridem kyseliny, sloužícím k acylaci hydroxyskupiny v poloze 5' a aminoskupiny v poloze 4. Acylová skupina se může potom selektivně odstranit z hydroxyskupiny v poloze 5' nebo aminoskupiny v poloze 4 nebo z obou těchto skupin. Například zpracováním diacylované sloučeniny za kyselých podmínek, například působením Lewisovy kyseliny, jako bromidu zinečnatého v methanolu, se odstraní 4N-acylová skupina za vzniku odpovídajícího 5'-OH esteru, zatímco zpracováním diacylované sloučeniny za alkalických podmínek, například působením methoxidu sodného, se odstraní 5'-OH acylová skupina, za vzniku odpovídajícího 4N-amidu. Acylové skupiny se také mohou odstranit selektivně zpracováním s komerčně dostupnými esterázovými nebo lipázovými enzymy, například esterázou z prasečích jater nebo lipázou ze slinivky břišní, nebo zpracováním podle způsobů, které jsou popsány v US patentovém spisu č. 5 071 983. Sloučenina vzorce I se může převést na svou farmaceuticky přijatelnou sůl obvyklým způsobem, například zpracováním s vhodnou bází.

Příklady provedení vynálezu

Dále uvedené příklady jsou určeny pouze k ilustraci a žádným způsobem nejsou míněny jako omezení rozsahu vynálezu. "Účinná složka" označuje směs sloučenin zidovudinu a cis-1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosinu v molárním poměru 1:25.

Příklad 1

Prostředky ve formě tablet

Dále uvedené prostředky A, B a C se vyrábějí granulací složek za vlhka s roztokem povidonu, poté přidáním stearátu hořečnatého a slisováním.

Prostředek A

	<u>mg/tableta</u>
účinná složka	250
laktóza B. P.	210
povidon B. P.	15
natriumglykolát škrobu	20
stearát hořečnatý	<u>5</u>
celkem	500

Prostředek B

	<u>mg/tableta</u>
účinná složka	250
laktóza B. P.	150
Avicel PH 101	60
povidon B. P.	15
natriumglykolát škrobu	20

stearát hořečnatý	<u>5</u>
celkem	500

Prostředek C

	<u>mg/tableta</u>
účinná složka	250
laktóza B. P.	200
škrob	50
povidon	5
stearát hořečnatý	<u>4</u>
celkem	359

Dále uvedené prostředky D a E se vyrábějí přímým slisováním promíchaných složek. Laktóza v prostředku E je typu určeného pro přímé slisování ("Zeparox" - Dairy Crest).

Prostředek D

	<u>mg/tableta</u>
účinná složka	250
předželatinovaný škrob NF15	<u>150</u>
celkem	400

Prostředek E

	<u>mg/tableta</u>
účinná složka	250
laktóza B. P.	150
Avicel	<u>100</u>
celkem	500

Prostředek F (Prostředek s řízeným uvolňováním)

Prostředek se vyrobí granulací složek za vlhka

s roztokem povidonu, poté přidavkem stearátu hořečnatého a slisováním.

	<u>mg/tableta</u>
účinná složka	500
hydroxypropylmethylcelulóza (Methocel K4M Premium)	112
laktóza B. P.	53
povidon B. P.	28
stearát hořečnatý	<u>7</u>
celkem	700

Uvolňování účinné látky nastává během období 6 až 8 hodin a je ukončeno po 12 hodinách.

Příklad 2

Prostředek ve formě kapslí

Prostředek A

Prostředek ve formě kapslí se vyrobí smícháním složek z prostředku D uvedeného v příkladu 1 výše a naplněním směsi do dvoudílných tvrdých želatinových kapslí. Prostředek B (popsaný dále) se vyrobí podobným způsobem.

Prostředek B

	<u>mg/kapsle</u>
účinná složka	250
laktóza B. P.	143
natriumglykolát škrobu	25
stearát hořečnatý	<u>2</u>
celkem	420

Prostředek C

	<u>mg/kapsle</u>
účinná složka	250
Macrogel 4000 B. P.	<u>350</u>
celkem	600

Kapsle z prostředku C se vyrobí roztavením Macrogelu 4000 B. P., dispergováním účinné složky v tavenině a plněním taveniny do dvoudílných tvrdých želatinových kapslí.

Prostředek D

	<u>mg/kapsle</u>
účinná složka	250
lecithin	100
arašidový olej	<u>100</u>
celkem	450

Kapsle z prostředku D se vyrobí dispergováním účinné složky v lecithinu a arašidovém oleji a plněním disperze do měkkých elastických želatinových kapslí.

Prostředek E (Kapsle s řízeným uvolňováním)

Dále uvedený prostředek tvořený kapslí s řízeným uvolňováním se vyrobí vytlačováním složek a), b) a c) za použití extrudéru, poté sferonizací extrudátu a vysušením. Vysušené pelety se poté povléknou membránou d) řídicí uvolňování a plní do dvoudílných tvrdých želatinových kapslí.

	<u>mg/kapsle</u>
a) účinná složka	250
b) mikrokrytalická celulóza	125
c) laktóza B. P.	125

d) ethylcelulóza	<u>13</u>
celkem	513

Příklad 3

Prostředek pro zavádění injekcí

Prostředek A

účinná složka	<u>mg</u> 250
---------------	------------------

0,1 M roztok kyseliny chlorovodíkové nebo
0,1 M roztok hydroxidu sodného,
podle potřeby k úpravě hodnoty pH na 4,0 až 7,0
sterilní voda podle potřeby do 10 ml

Účinná látka se rozpustí jak nejvíce je možné ve vodě (o teplotě 35 až 40 °C) a hodnota pH se upraví na 4,0 až 7,0 podle potřeby přidáním kyseliny chlorovodíkové nebo hydroxidu sodného. Násada se potom doplní na potřebný objem vodou, filtruje přes sterilní mikroporézní filtr do sterilních skleněných láhviček jantarového zabarvení o objemu 10 ml (typu 1), uzavře sterilním uzávěrem a opatří záklapkou na láhve.

Prostředek B

účinná látka	125 mg
--------------	--------

sterilní fosfátový pufr,
neobsahující pyrogenní látky,
o hodnotě pH 7 podle potřeby do 25 ml

Příklad 4

Intramuskulární injekce

účinná látka	200	mg
benzylalkohol	0,10	g
Glycofurol 75	1,45	g
voda pro injekce	podle potřeby do	3,00 ml

Účinná složka se rozpustí v glukofurolu. Poté se přidá benzylalkohol a rozpustí a nato se přidá voda do 3 ml. Směs se poté filtruje přes sterilní mikroporézní filtr a uzavře do sterilních skleněných láhviček jantarového zbarvení o objemu 3 ml (typu 1).

Příklad 5

Sirup

účinná látka	250	mg
roztok sorbitolu	1,50	g
glycerol	2,00	g
benzoát sodný	0,005	g
příchuť, Peach 17.42.3169	0,0125	ml
čistěná voda	podle potřeby do	5,00 ml

Účinná složka se rozpustí ve směsi glycerolu a větší části čistěné vody. Poté se k roztoku přidá vodný roztok benzoátu sodného, nato roztok sorbitolu a nakonec příchuť. Objem se upraví čistěnou vodou a vše se dobře promíchá.

Příklad 6

Čípek

	<u>mg/čípková kapsle</u>
účinná látka	250

tvrdý tuk, B. P. (Witepsol H15 - Dynamit Nobel)	1770
celkem	<u>2020</u>

Jedna pětina Witepsolu H15 se roztaví v pánvi opatřené parním pláštěm za maximální teploty 45 °C. Účinná složka se prosije sítem s velikostí ok 200 µm a přidá k roztavené bázi za míchání, při použití Silversonova míchadla smontovaného s řeznou hlavou, přičemž míchání pokračuje dokud se nedosáhne hladké disperze. Směs se udržuje za teploty 45 °C, k suspenzi se přidá zbývající Witepsol H15 a vše se míchá, aby se zajistila homogenní směs. Veškerá suspenze se vede přes síto z nerezavějící oceli s velikostí ok 250 µm a za nepřetržitého míchání se nechá ochladit na teplotu 40 °C. Za teploty 38 °C až 40 °C se 2,02 g směsi plní do vhodných forem o objemu 2 ml z plastické hmoty. Čípky se nechají vychladnout na teplotu místnosti.

Příklad 7

Pesar

	<u>mg/pesar</u>
účinná látka	250
anhydrát dextrózy	380
bramborový škrob	363
stearát hořečnatý	<u>7</u>
celkem	1000

Výše popsané složky se přímo smíchají a pesary se připraví přímým slisováním výsledné směsi.

Příklad 8

Způsob výroby 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-

-fluorcytosinu

Způsob A

Vyrobí se směs (\pm)-cis- a (\pm)-trans-2-benzoyloxymethyl-5-(N₄-acetylcytosin-1-yl)-1,3-oxathiolanu a rozdělí se na (\pm)-cis- a (\pm)-trans-isomer, jak je popsáno v evropském patentovém spise č. 0 382 526. (\pm)-cis-Isomer se fluoruje působením trifluormethylhypofluoritu v fluortrichlormethanu a chloroformu za teploty -78 °C podle způsobu, který popsal Robins a kol. v Nucleic Acid Chemistry, část 2, str. 895 až 900 /1978/. N₄-Acetylová a 2-benzoylová skupina se odstraní působením dimethylaminu v ethanolu a izoluje se výsledná sloučenina, (\pm)-cis-1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosin.

Způsob B

Směs (\pm)-cis- a (\pm)-trans-2-benzoyloxymethyl-5-(uracil-1-yl)-1,3-oxathiolanu se vyrobí jak je popsáno v evropském patentovém spise č. 0 382 526. Po odstranění 2-hydroxyskupiny nasyceným methanolickým roztokem amoniaku se isomery oddělí na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a methanolu jako elučního činidla (evropský patentový spis č. 0 382 526). (\pm)-cis-Isomer se nechá reagovat s anhydridem kyseliny octové v pyridinu za teploty místnosti na 2-acetát. Rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku při teplotě nižší než 30 °C. 2-Acetát se potom rozpustí v chloroformu a promyje vodným roztokem hydrogenuhlíčitanu. Oddělená organická vrstva se vysuší a chloroform se odpaří za sníženého tlaku. (\pm)-cis-2-Acetyloxymethyl-5-(uracil-1-yl)-1,3-oxathiolan se fluoruje jak je popsáno výše (způsob A) způsobem, který popsal Robins a kol. Konverze 5-fluoruracilové báze na 5-fluorcytosinovou bázi se provede tím, že se vyrobí 4-(1,2,4-triazol-1-yl) derivát podle způsobů, které uvedl C. B.

Reese v J. Chem. Soc., Perkins I, 1171 /1984/ a W. L. Sung v Nucleic Acids Res., 9, 6139 /1981/ za použití 1,2,4-triazolu a 2 ekvivalentů 4-chlorfenyldichlorfosfátu v suchém pyridinu při teplotě místnosti. Po této konverzi se provede reakce s methanolem předem nasyceným amoniakem za teploty 0 °C a 2-acetát se hydrolyzuje, čímž se dojde k (±)-cis-1-/2--(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosinu.

Protivirový účinek

Kombinace podle tohoto vynálezu se testují na účinek proti HIV při testu na MT4 buňkách infikovaných HIV, jak popsal D. R. Averett v J. Virol. Methods 23, 263-276 /1989/. Buňky se vystaví působení HIV na dobu jedné hodiny před přidáním protivirově účinné složky nebo složek. Složky se testují při 2,5-násobném seriovém ředění. Po pěti dnech inkubace za teploty 37 °C se stanoví počet buněk. Vypočítá se inhibice HIV indukovaná cytopatickým účinkem a synergismus se stanoví tím, že se do grafu vynesou frakční koncentrace inhibitoru (FIC), jak popsal Elion, Singer a Hitchings v J. Biol. Chem. 208, 477 /1954/.

Frakční koncentrace inhibitoru (FIC) zidovudinu a cis-1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosinu se vypočítají podle metody Eliona a kol., citováno výše (viz tabulka 1).

Tyto hodnoty se mohou vynést do grafu, ze kterého se dá zjistit, že kombinace cis-1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosinu a zidovudinu působí silně synergicky.

Tabulka 1

Výpočet frakční koncentrace inhibitoru (FIC)

70 % inhibice

Zidovudin (μM)	Sloučenina 1* (μM)	FIC zidovudinu	FIC sloučeniny 1
0,004	2,5	0,018	0,48
0,01	2,0	0,045	0,38
0,0256	1,6	0,12	0,31
0,06	1,4	0,27	0,26
0,22	-		
-	5,2		

* Sloučeninou 1 je cis-1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosin

01110
0051110
00110

P A T E N T O V É N Á R O K Y .

1. Farmaceutická kombinace, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje složky

a) 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosin nebo jeho fyziologicky funkční derivát a

b) 3'-azido-3'-deoxythymidin nebo jeho fyziologicky funkční derivát,

příčemž složky a) a b) kombinace se používají v poměru, při kterém se dosáhne synergického protivirového účinku.

2. Farmaceutická kombinace podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že složkou a) je 1-/2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiazolan-5-yl/-5-fluorcytosin a složkou b) je 3'-azido-3'-deoxythymidin.

3. Farmaceutická kombinace podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se složky používají v molárním poměru v rozmezí od 600:1 do 1:1 složky a) ke složce b).

4. Farmaceutická kombinace podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se složky používají v molárním poměru v rozmezí od 250:1 do 10:1 složky a) ke složce b).

5. Farmaceutická kombinace podle některého z předcházejících nároků k použití v humánní terapii.

6. Farmaceutická kombinace podle nároku 5 k použití při ošetřování nebo profylaxi infekcí způsobených virem lidské imunitní nedostatečnosti (HIV).

7. Použití farmaceutické kombinace podle některého z nároků 1 až 4 k výrobě léčiva pro použití při ošetřování nebo profylaxi infekcí způsobených virem lidské imunitní nedostatečnosti (HIV).

8. Způsob výroby farmaceutické kombinace podle některého z nároků 1 až 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se uvedou do styku složky a) a b) kombinace, k dosažení synergického protivirového účinku.

9. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje farmaceutickou kombinaci, podle některého z nároků 1 až 4, dohromady s alespoň jednou farmaceuticky přijatelnou nosnou nebo pomocnou látkou.

10. Farmaceutický prostředek podle nároku 9, v y z n a č u j í c í s e t í m, že je ve formě tablety nebo kapsle.